

氏 名	岸 上 良 太
学 位 の 種 類	博士（歯学）
学 位 授 与 番 号	岩医大院歯博第276号
学 位 授 与 の 日 付	平成24年3月9日
学 位 論 文 題 目	Histological Analysis of Epithelial Stem Cells during Induced Pluripotent Stem Cell-derived Teratoma Development － iPS 細胞由来奇形腫形成過程における上皮幹細胞の組織学的解析 －

論文内容の要旨

I 研究目的

iPS 細胞は多能性を有し、体細胞から樹立できることから、再生医療への応用が期待されている。しかし、歯の再生に利用できる細胞を iPS 細胞から誘導できるかは不明である。本論文では、奇形腫の形成過程における上皮組織の発生を詳細に調べ、歯胚の再生に有用な上皮幹細胞が存在するかを検討した。

II 研究方法

iPS 細胞（ 1×10^6 cells）をコラーゲンゲルに播種して、免疫不全マウスの皮下に移植した。移植後 7, 14, 21 日目に形成された奇形腫を採取し、それらのパラフィン包埋切片を作製し、H-E 染色を行った。さらに各種胚葉の分化マーカー（ β -III tubulin, muscle-specific actin, α -fetoprotein）と上皮幹細胞マーカー（CK14, p63, CD49f）抗体を用いて免疫組織化学を行った。

III 研究成績

1. 各種胚葉の分化過程

7 日目に β -III tubulin 陽性細胞が出現し、14 日目に muscle-specific actin と α -fetoprotein 陽性細胞が出現した。

2. 上皮の発生過程

7 日目には組織学的に分類できない上皮塊様構造物、単層上皮、多列線毛上皮が観察された。14 日目以降に重層上皮が観察された。

3. 上皮幹細胞の探索

CD49f は 7 日目からすべてのタイプの上皮に発現し、特に重層上皮の基底層に強く発現した。CK14 と p63 は 14 日目から上皮塊と重層上皮の基底層に強く発現した。

IV 考察及び結論

胚葉の分化過程は、まず外胚葉組織、次に中胚葉と内胚葉組織の順に生じた。

上皮の発生過程は、単層上皮と杯細胞を含まない多列線毛上皮から、重層上皮や杯細胞を含む多列線毛上皮まで進行した。本研究から、14 日目以降に上皮幹細胞が存在することが明らかになった。

上皮幹細胞の詳細な分化メカニズムや周囲環境を明らかにすることで、今後 iPS 細胞を直接上皮幹細胞に分化誘導して、組織再生に応用できる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 水 城 春 美（口腔外科学講座 顎口腔外科学分野）

副査 教授 原 田 英 光（解剖学講座 発生生物・再生医学分野）

副査 教授 武 田 泰 典（病理学講座 病態解析学分野）

iPS 細胞は多能性を有し、体細胞から樹立できることから、再生医療への応用が期待されているが、歯の再生に利用できる細胞を iPS 細胞から誘導できるかは不明である。そこで、iPS 細胞に由来する奇形腫の形成過程における上皮組織の発生を詳細に調べ、歯胚の再生に有用な上皮幹細胞が存在するかを検討した。

iPS 細胞 (1×10^6 cells) をコラーゲンゲルに播種して、免疫不全マウスの皮下に移植した。移植後 7, 14, 21 日目に形成された奇形腫を採取し、それらのパラフィン包埋切片を作製して、H-E 染色を行った。さらに外、中、内の各細胞マーカー (β -III tubulin, muscle-specific actin, α -fetoprotein, CK14, p63, CD49f) を用いて免疫組織化学を行った。

各種胚葉の分化過程については、7 日目に β -III tubulin 陽性細胞が出現し、14 日目に muscle-specific actin と α -fetoprotein 陽性細胞が出現した。上皮の発生過程では、7 日目には組織学的特徴に乏しい上皮塊様構造物、単層上皮、多列線毛上皮が観察され、14 日目以降に重層上皮が観察された。さらに、上皮幹細胞マーカーの CD49f は 7 日目からすべてのタイプの上皮に発現し、とくに重層上皮の基底層に強く発現した。CK14 と p63 は 14 日目から上皮塊と重層上皮の基底層に強く発現した。

胚葉の分化過程は、まず外胚葉組織、次に中胚葉と内胚葉組織の順に生じた。上皮の発生過程は、単層上皮と杯細胞を含まない多列線毛上皮から、重層上皮や杯細胞を含む多列線毛上皮まで進行した。本研究から、14 日目以降に上皮幹細胞が存在することが明らかになった。

今後、上皮幹細胞の詳細な分化メカニズムや周囲環境を明らかにすることで、iPS 細胞を直接上皮幹細胞に分化誘導して、組織再生に応用できる可能性が示唆された。

試験・試問の結果の要旨

最初に本論文の目的、研究方法、結果ならびにその考察、今後の研究の展開について発表され、次いで学位論文の内容と関連する副論文の 1 つについても発表された。発表は詳しく、しかも分かりやすく、論文内容が良く理解できた。発表の内容ならびに関連する事項について試問した結果、いずれも適切かつ明瞭な回答が得られた。また、口腔外科学に関する十分な知識も有し、今後の研究に対しても意欲的であり、学位に値する学識と研究能力を備えているものと判定した。